

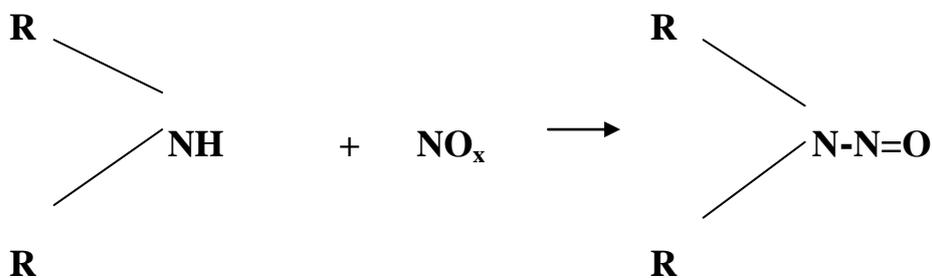
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mekanisme Terbentuknya Nitrosamin Secara Umum

Amine adalah senyawa kimia turunan dari Amonia (NH_3). Dengan penggantian satu atau beberapa hidrogen pada ammonia dengan gugus karbon tambahan (-R), primer, sekunder dan tersier amine dibuat.¹⁶ Penggantian satu atom hidrogen dengan satu gugus karbon tambahan menghasilkan amine primer. Penggantian dua atau tiga atom hidrogen pada dua atau tiga gugus karbon tambahan menghasilkan masing-masing amine sekunder dan amine tersier.¹⁷

Nitrosamine terbentuk oleh amine sekunder dengan nitrogen yang teroksidasi. Nitrogen teroksidasi dibentuk oleh pemanasan senyawa yang mengandung nitrogen, melalui udara (oksidasi oleh atmosfer). Reaksi ini disebut nitrosation. Reaksi amine sekunder ($\text{R}_2\text{-NH}$) paling sering menghasilkan nitrosamine bila dibandingkan dengan amine primer ($\text{R}_1\text{-NH}_2$). Ini disebabkan sifat amine primer yang tidak stabil dan mudah terurai. Amine tersier ($\text{R}_3\text{-N}$) tidak membentuk nitrosamine.¹⁸



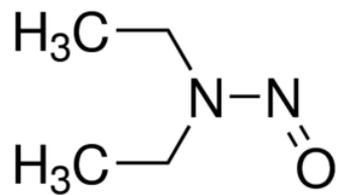
Gambar 1. Rumus struktur pembentukan nitrosamin^{16,19}

Pada umumnya nitrosamine dibagi dalam dua kelompok, yaitu nitrosamine volatil dan non-volatil. Nitrosamin volatil adalah grup nitrosamine yang relatif non-polar dan mempunyai berat molekul yang rendah, misalnya N-Nitrosodietilamin (NDEA), N-Nitrosodimetilamin (NDMA), N-Nitrosopirrolidin (NPIR), N-Nitrosopiperidin (NPIP), dan Nitrosotiazolidin. Sedangkan nitrosamine non-volatil adalah grup nitrosamine yang bersifat polar dan mempunyai berat molekul lebih tinggi, misalnya N-Nitrosodietanolamin.¹⁸

Pembentukan nitrosamine dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti konsentrasi reaktan, keasaman, suhu, lama penyimpanan, kebasaaan dari amine, adanya katalisator atau inhibitor.^{20,21} Makin tinggi konsentrasi nitrit dan senyawa amin, maka makin mudah terjadi pembentukan nitrosamine. Pada kondisi asam (pH rendah), pemanasan pada suhu tinggi atau makin lama penyimpanan bahan-bahan yang mengandung nitrit dan amin, maka akan meningkatkan pembentukan nitrosamine.²¹

2.2 Dietilnitrosamin

Dietilnitrosamin (DEN) adalah senyawa nitrosamine yang merupakan salah satu karsinogen yang paling banyak terjadi terutama menyerang organ seperti hati, ginjal, paru-paru, kulit, dan mata.¹⁶ DEN mempunyai beberapa nama lain yaitu NDEA; DENA; DEN; DANA Diethylnitrosamine; Diethylnitrosamine; Nitrosodiethylamine.^{16,22} Senyawa ini berbentuk cair, berwarna kuning, bersifat stabil, namun peka terhadap cahaya, mudah terbakar. DEN mempunyai rumus molekul $C_4H_{10}N_2O$, berat molekul 102,14 dan titik didih antara 175-177°C.²³ Sedangkan rumus struktur DEN adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Rumus struktur dietilnitrosamin (DEN)²³

DEN diketahui bersifat karsinogenik yang kuat sehingga dengan jumlah sedikit dan dosis rendah saja sudah bisa menimbulkan keganasan.²⁴ DEN dilaporkan hadir dalam berbagai makanan seperti susu kering non lemak, rokok, ikan asin, keju, daging *curing* dan minuman beralkohol.²⁵ Jangka panjang akibat DEN dapat menyebabkan kerusakan hati atau fibrosis.²⁵

Tabel 2. Akumulasi nitrosamine dalam makanan²⁶

Sumber	N-Nitrosamin	Konsentrasi
Produk Daging		
- Sosis	DMN	10-80
- Daging Asap	DEN, DMN, NPYR, NPIP	1-40
- Daging Babi Cincang	DEN, DMN	1-4
Ikan		
- Ikan Asin	DMN	50-100
Makanan lainnya		
- <i>Solanum incanum</i>	DMN	ND
- Keju	DMN	1-4
- Soya bean oil	DEN, DMN	ND
Rokok	DEN	0-180/rokok

2.3 Metabolisme Dietilnitrosamin dan Efek Negatif pada Hepar

DEN sering hadir dalam lingkungan manusia, karena penggunaannya yang luas atau pun pembentukannya. Sejak adanya penemuan aktivitas karsinogenik dari senyawa ini, banyak yang sering membandingkan dengan senyawa kimia lainnya. DEN menghasilkan produk pro mutagenik, O⁶-etil deoksi guanosin dan O⁴ dan O⁶-etil deoksi timidin di hati yang akan mengarah ke stres oksidatif dan pada tahap awal akan timbul peradangan bahkan kemudian dapat menyebabkan kanker hepar.^{23,27} Metabolisme DEN akan menyebabkan timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Dalam keadaan normal hepar, DEN dimetabolisme oleh CYP450 sehingga menghasilkan ROS yang termasuk dalam kelompok radikal bebas.²⁸ Sumber utama ROS bisa berasal dari mitokondria hepatosit, makrofag yang diaktifkan, merangsang sel Kupfer untuk mengeluarkan sitokin (seperti IL-1, 6 dan 8) dan kemokin (seperti MIP-2, IP-102, MIP-1 α , MCP-1), dan infiltrasi neutrofil. Kelebihan ROS termasuk O₂, H₂O₂ dan NO, dapat menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, kerusakan DNA dan mutagenesis terkait dengan berbagai tahap pada peradangan hepar.²⁹

Induksi sitokrom CYP450 dan nitrat oksida sintase diinduksi (iNOS) memberikan kontribusi lebih untuk stres oksidatif dalam hati yang rusak. ROS juga dapat memicu translokasi faktor-kappa nuklir B (NF-kB) ke inti dan aktivasi beberapa sinyal inflamasi untuk melepaskan sitokin dan molekul adhesi yang berkontribusi untuk memajukan produksi ROS, sehingga menimbulkan respon inflamasi, apoptosis dan kematian sel.³⁰ Untuk menyingkirkan radikal bebas tubuh mempunyai beberapa mekanisme salah satunya dengan antioksidan endogen yang bekerja dengan menghambat pembentukan radikal bebas.

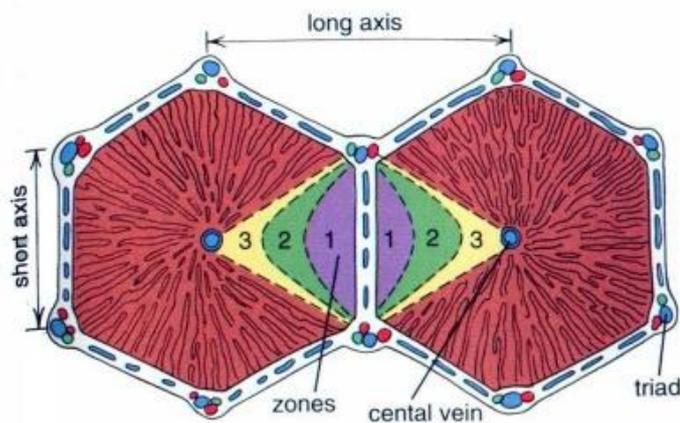
Ketika DMN diberikan kepada tikus secara sistemik pada dosis 30 mg / kg, itu didistribusikan secara merata di antara berbagai organ dan dimetabolisme benar-benar di sekitar 5 jam, sedangkan DEN dimetabolisme ke tikus pada tingkat sekitar 4% dari dosis (200 mg / kg) per jam. Dalam kedua kasus tersebut metabolisme paling dominan terjadi terutama di hati walaupun terjadi juga pada organ lain, seperti ginjal dan saluran pernapasan.^{31, 32}

Tabel 3. Lokalisasi Tumor Akibat Senyawa Nitrosamin³³

Organ Target	N-Nitrosamin
Hati	35
Esofagus-faring	32
Hidung	18
Saluran Pernapasan	10
Ginjal	8
Lidah	8
Perut Depan	7
Kandung Kemih	4
Sistem saraf pusat dan saraf tepi	2
Testis	1
Ovarium	1
Glandula mammae	1

2.4 Pengaruh Dietilnitrosamin terhadap histopatologi hepar

Hepar merupakan organ yang bersifat sensitif terhadap bahan atau zat yang bersifat toksik, sehingga hepar rentan mengalami kerusakan dengan diawalinya lesi biokemik yang menyebabkan perubahan metabolisme dan dapat mengakibatkan perubahan struktur serta perubahan fungsi hepar. Perubahan struktur dan fungsi dari dapat dilihat dari perubahan unit fungsional utama hepar yang disebut dengan lobulus hepar.³⁴ Lobulus hepar dapat dibagi menjadi 3 zona yaitu.³⁵



Gambar 3. Zona 1, Zona 2, Zona 3 Lobulus³⁵

1. Zona 1 : Zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan trias portal dan menerima paling banyak darah yang mengandung oksigen
2. Zona 2 : Zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah
3. Zona 3 : Zona pasif, aktivitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat. Zona ini yang paling jauh dengan trias porta

dan menerima darah yang mengandung oksigen dengan kadar paling sedikit.

Apabila hepar dipapari oleh oksidan ataupun zat toksik yang berlebihan maka hepar dapat mengalami perubahan patologis, perubahan struktur tersebut yang dapat dilihat secara mikroskopis adalah :

1. Radang

Merupakan suatu reaksi pertahanan tubuh dalam melawan berbagai jejas. Pada hepar yang mengalami radang, secara mikroskopis dapat ditemukan sel *polimorfonuclear*, fagosit, monosit, dan limfosit.

2. Degenerasi

Degenerasi sel adalah perubahan struktur sel normal sebelum terjadi kematian sel. Degenerasi dapat terjadi di inti maupun sitoplasma. Berikut ini merupakan degenerasi pada inti sel hepar:³⁶

- a. Vakuolisasi : Degenerasi yang ditandai dengan inti tampak membesar dan bergelembung, serta kromatinnya jarang.
- b. Badan Inklusi : Inti sel hepar yang mengandung *inclusion bodies* eosinofilik.

Selain degenerasi pada inti sel, terdapat juga perubahan pada proses degenerasi sitoplasma sel. Berikut ini merupakan jenis-jenis degenerasi sitoplasma pada sel hepar antara lain :³⁶

- a. Degenerasi Hidropik : Degenerasi yang terjadi karena adanya gangguan membran sel sehingga cairan masuk ke dalam sitoplasma, yang menyebabkan terbentuknya vakuola-vakuola

kecil sampai besar. Sel umumnya lebih besar, sinusoid hepar tampak lebih sempit bila dibandingkan dengan keadaan normal. Degenerasi ini bersifat reversibel.

- b. Degenerasi Hialin : Degenerasi yang berat, dan merupakan lanjutan dari degenerasi hidropik. Terjadi akumulasi protein diantara jaringan ikat.
- c. Degenerasi Albuminosa : Degenerasi yang paling ringan berupa pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma. Sel hepar bengkak dengan sitoplasma berbutir keruh, mungkin disebabkan oleh pengendapan protein yang disebabkan oleh gangguan metabolisme energi dalam sel yang membuat sel tidak mampu memompa natrium keluar dari sel.
- d. Degenerasi Lemak : Degenerasi yang ditandai dengan adanya penimbunan lemak pada parenkim hepar, dapat berupa bercak, zonal atau merata. Fase terakhir dari degenerasi lemak adalah sel hepar tampak berisi globuli lemak yang besar sehingga nukleus terdasak ke tepi sel.
- e. Degenerasi Amiloid : Terjadinya penimbunan amiloid, suatu kompleks protein-karbohidrat, tampak dalam celah disie.

3. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel hepar atau jaringan hepar diantara sel yang masih hidup. Nekrosis biasanya memiliki distribusi zona tertentu. Nekrosis paling jelas tampak jika terjadi segera pada hepatosit yang

terletak di sekitar vena hepatica terminalis. Berdasarkan lokasi dan luas area dari nekrosisnya dapat dibedakan menjadi sebagai berikut :³⁷

a. Nekrosis Fokal

Kematian sel atau sekelompok sel dalam lobulus, yang dapat ditemukan adanya leukosit, histiosit dan sel Kupffer.

b. Nekrosis Zonal

Kerusakan sel hepar dalam satu lobus.

c. Nekrosis Masif dan Submasif

Terjadi perlemakan pada sel hepar yang masih hidup terutama sentrilobuler dan disertai pigmen lipofuksin. Hepatosit dalam lobulus menjadi hilang akibat dari nekrosis masif.

d. Nekrosis Anoksik

Terjadinya kekurangan oksigen pada nekrosis zonal, masif atau submasif dan biasanya tidak merusak sel jaringan ikat lainnya.

4. Fibrosis

Fibrosis terjadi akibat kurangnya kemampuan regenerasi sel hepar yang cukup dalam jangka waktu yang lama.³⁸

2.5 Fibrosis Hepar

Fibrosis hepar merupakan gambaran yang khas dari seluruh penyakit hati yang kronik. Kegagalan hati untuk mengeluarkan bahan berbahaya seperti virus, zat toksik, dan antigen lainnya akan menyebabkan inflamasi yang kronik disertai fibrosis hati dan diakhiri dengan terjadinya sirosis hati. Fibrosis hati terjadi akibat akumulasi komponen matriks ekstraseluler yang mengakibatkan kerusakan arsitektur hati dan disfungsi sel hati. Komponen matriks ekstraseluler ini banyak

mengandung sitokin, faktor pertumbuhan atau makromolekul lain yang saling terpisah dengan interaksi yang spesifik dengan komponen yang bervariasi terutama proteoglikan dan glikoprotein adesif.³⁹

Penyakit-penyakit yang dapat menyebabkan fibrosis pada hepar adalah sindroma metaboli, kolestasis, alkoholisme, infeksi virus hepatitis terutama B dan C, serta paparan aflatoksin. Fibrosis hati terjadi sebagai respon dari injuri hati yang kronik, dan proses tersebut progresif hingga berakhir dengan sirosis hati dimana terjadi hipertensi portal dan kegagalan fungsi hati. Lebih dari 40% pasien sirosis hati adalah asimtomatik, sehingga dengan melakukan evaluasi pemeriksaan terhadap fibrosis hati secara dini diharapkan dapat dilakukan intervensi terapi dan penilaian terhadap progresifitas fibrosis hati secepatnya serta dapat menilai respon terhadap terapi.⁴⁰

Fibrosis hepar berkorelasi erat dengan keparahan dan prognosis, maka dari itu penentuan derajat fibrosis dengan akurat dapat memberikan informasi mengenai tatalaksana penyakit hepar kronis yang mendasari. Pemeriksaan baku emas untuk pemeriksaan fibrosis hepar adalah biopsi. Biopsi digunakan untuk penentuan diagnosis fibrosis, stratifikasi resiko, evaluasi prognosis dan diagnosis banding. Keuntungan menggunakan biopsi ini diantaranya adalah dapat mengetahui secara tepat derajat kerusakan hepar dan mengetahui sampai sejauh mana prognosis dari kerusakan hepar. Tetapi, biopsi hepar menggunakan metode invasif yang berhubungan dengan resiko morbiditas antara 0,3 % – 0,6 % dan resiko mortalitas sekitar 0,05% .⁴¹

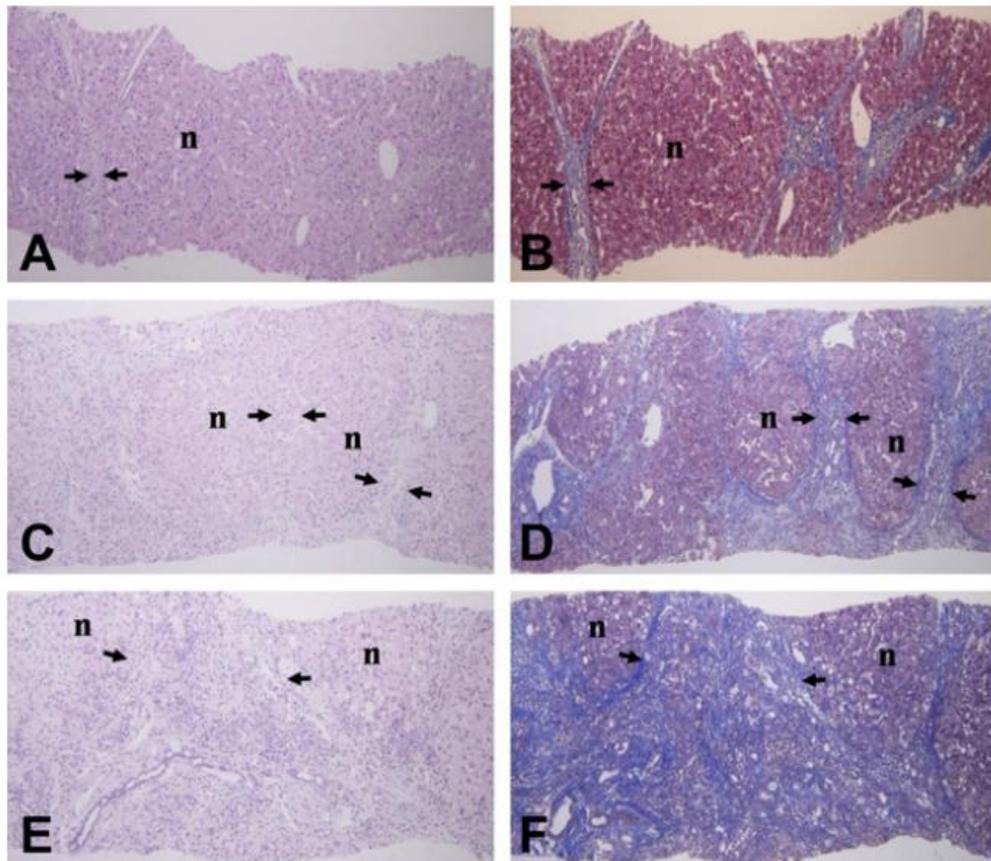
Terdapat beberapa sistem penentuan derajat fibrosis berdasar hasil biopsi, salah satunya adalah dengan menggunakan sistem penentuan derajat Laennec

(*Laennec's scoring system*). Sistem ini membagi fibrosis derajat tinggi atau sirosis menjadi 3 subdivisi (4A, 4B dan 4C) dengan tujuan untuk mengidentifikasi keragaman keparahan derajat sirosis.⁴²

Tabel 4. Laennec's scoring system⁴³

Grade	Nama	Septa (Ketebalan & Jumlah)	Kriteria	Skor
0	Tidak ada fibrosis			0
1	Fibrosis minimal	+/-	Tidak ada septa atau sedikit septa tipis; mungkin didapatkan ekspansi portal atau fibrosis sinusoidal ringan	1
2	Fibrosis ringan	+	Beberapa septa tipis; mungkin didapatkan ekspansi portal atau fibrosis sinusoidal ringan	2
3	Fibrosis sedang	++	Septa tipis moderat; hingga sirosis inkomplit.	3
4A	Sirosis, <i>mild definite or probable</i>	+++	Septa tampak jelas dengan kontur melingkar atau nodul yang tampak jelas. Sebagian besar septa berukuran tipis. (diperbolehkan adanya satu septa berukuran luas)	4
4B	Sirosis sedang	++++	Setidaknya terdapat dua septa yang luas, tetapi tidak ada septa yang sangat luas	5

			dan didapatkan nodul kecil kurang dari separuh panjang biopsi	
4C	Sirosis berat	+++++	Setidaknya terdapat satu septa yang sangat luas atau didapatkan nodul kecil lebih dari separuh panjang biopsi (sirosis mikronodular)	6



Gambar 4. Gambaran fibrosis hepar⁴³

Gambar (A) dan (B) menunjukkan adanya sirosis ringan dengan septa yang tipis, (C) dan (D) menunjukkan adanya sirosis sedang setidaknya dengan dua septa yang luas (4B), gambar (E) dan (F) menunjukkan sirosis yang berat setidaknya dengan satu septa yang sangat luas (4C). lebar antara 2 tanda panah menunjukkan perbedaan signifikan antara

subklas fibrosis, n: nodul yang mengalami regenerasi. Gambar sebelah kiri menggunakan pengecatan HE, sebelah kanan dengan *Masson trichrome*.

2.6 Manfaat ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai hepatoprotektor

Sukun (*Artocarpus altilis*) termasuk kedalam genus *Artocarpus* dan spesiesnya *Artocarpus altilis*.⁴⁴ Tanaman sukun merupakan salah satu tanaman yang banyak memiliki manfaat, selain dimanfaatkan sebagai tanaman pangan, sukun juga dapat digunakan sebagai tanaman obat yang dikenal sebagai salah satu bahan herbal alami.⁴⁵ Daun sukun dilaporkan memiliki banyak kegunaan karena kandungan senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan seperti saponin, polifenol, tanin, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin dan flavonoid. Daun tanaman ini juga mengandung quersetin, champorol, dan artoindonesianin. Selain itu, senyawa yang terkandung dalam daun sukun adalah 72,5% asam amino, 62,8% asam lemak, dan 81,4% karbohidrat.⁴⁶ Mineral yang terkandung dalam daun sukun diantaranya kalsium, natrium, besi, magnesium. Di salah satu rumah tradisional di Nigeria, daun tanaman ini digunakan untuk pengobatan gangguan hati, ginjal, hipertensi, diabetes, dan infeksi kulit seperti gatal. Selain itu juga daun sukun dapat menetralkan racun dalam makanan.¹²

Meskipun belum terdapat penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun sukun terhadap hepar yang diinduksi dietilnitrosamin, terdapat penelitian yang dilakukan oleh Ria Restu *et al* mengenai pengaruh ekstrak daun sukun terhadap penurunan kadar trigliserida dan terhadap hepar tikus *Rattus norvegicus* yang hiperkolesterolemia. Penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan trigliserida sebesar 99,9% dibandingkan tikus normal. Hal ini membuktikan bahwa diet

hiperkolesterolemia selama 14 hari dapat meningkatkan kadar trigliserida. Pada kelompok yang diberikan terapi perlahan mulai mengalami penurunan sesuai dengan dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis terapi semakin rendah kadar trigliserida.⁴⁷

Untuk pengaruh pemberian ekstrak daun sukun terhadap hepar tikus memperlihatkan adanya perbedaan pada bagian sinusoid dan sel hepar. Gambaran histopatologi hepar pada tikus hiperkolesterolemia yang mendapat terapi ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) dosis 500 mg/kg BB menunjukkan adanya perbaikan pada inti sel hepar dan sinusoid mulai terlihat jelas jika dibandingkan dengan kelompok B. Penurunan akumulasi lemak berpengaruh pada struktur sel hepar. Pada dosis ekstrak air daun sukun (*Artocarpus altilis*) 1000 mg/kg BB menunjukkan sel hepar yang mengalami perlemakan lebih sedikit dan sinusoid terlihat lebih jelas dibandingkan kelompok C. Pada dosis 2000 mg/kg BB menunjukkan gambaran histopatologi mendekati kelompok tikus sehat yaitu sel hepar yang mengalami perlemakan sangat sedikit dan sinusoid mulai nampak teratur, memancar dari vena sentralis jika dibandingkan kelompok C, dan D.⁴⁷

Penelitian lain yang dilakukan oleh Sri Oktavia et al tentang aktivitas hepatoprotektor ekstrak daun sukun terhadap hepar tikus putih jantan yang diinduksi CCL4 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas SGOT, SGPT bahkan bisa menimbulkan kerusakan hati.¹²

2.7 Madu sebagai Antioksidan

Madu pada zaman prasejarah digunakan sebagai pemanis sebelum adanya gula. Madu yang diproduksi oleh lebah liar maupun lebah budidaya. Sampai

sekarang madu masih banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia dan cara perolehan madu yang terbilang mudah karena dapat ditemukan diberbagai tempat.

Madu juga telah digunakan oleh masyarakat Mesir kuno untuk mengobati luka bakar, merangsang pengeluaran kemih, sakit perut, mengatasi kram otot, mengobati sesak nafas, dan demam.¹⁵ Madu secara topikal juga telah terbukti untuk mencegah kerusakan kornea.⁴⁸ Selain menyejukkan, cairan kental yang terasa manis itu mengandung antikuman (bakteri), sehingga dapat digunakan sebagai zat antiseptik yang dapat diminum bagi penderita peradangan tubuh. Selain itu madu juga dapat menghilangkan rasa letih, lelah, lesu, dapat menurunkan tekanan darah tinggi dan sebagai obat demam, flu, masuk angin, campak, tukak lambung maupun TBC. Lebih spesifik lagi, madu dapat digunakan untuk mengatasi gangguan hati.¹¹

Madu memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap. Madu mengandung berbagai jenis gula, yaitu monosakarida, disakarida dan trisakarida. Monosakarida terdiri atas glukosa dan fruktosa sekitar 70%, disakarida yaitu maltosa sekitar 7% dan sukrosa antara 1-3%, sedangkan trisakarida antara 1-5%. Dalam madu juga terdapat banyak kandungan asam amino, vitamin, mineral, asam, enzim serta serat. Asam amino yang terdapat dalam madu berjumlah 18 jenis. Vitamin dalam madu berupa thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, folat, vitamin B6, B12, C, A, D, dan vitamin K. Enzim yang terkandung dalam madu antara lain enzim invertase, amilase atau diastase, glukosa oksidase, katalase, dan asam fosfatase.⁴⁹ Komposisi madu dan kandungan kimia yang terkandung dalam madu tercantum pada tabel dibawah ini secara rinci.

Tabel 5. Komposisi Madu⁵⁰

Kandungan	Rata-Rata	Kisaran	Deviasi Standar
Fruktosa	38,38	0,76-1,86	0,126
Glukosa	30,31	22,89 – 44,26	3,04
Sukrosa	1,31	0,25 – 7,57	0,87
Maltosa	7,3	2,7 – 16,0	2,1
Gula	83,27		
Mineral	0,169	0,020 – 1,028	0,15
Asam Bebas	0,43	0,13 – 0,92	0,16
Nitrogen	0,041	0,133	0,026
Air	17,2	13,4 – 22,9	1,5

Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa madu memiliki kandungan vitamin dan mineral yang tinggi.

Secara umum, madu memiliki banyak peranan penting dalam tubuh yaitu sebagai antimikroba, antikanker, antiperdarahan, mengobati luka, kecantikan kulit wanita, bermanfaat untuk wanita hamil dan menyusui, memperingan masa persalinan, sebagai obat anemia anak, membantu pertumbuhan tulang dan gigi anak, melindungi pencernaan anak serta sebagai antioksidan.⁴⁸ Berdasarkan uji klinik, madu berguna sebagai sumber nutrisi yang bernilai tinggi, mereduksi inflamasi dan udem, stimulasi epitelisasi dan regenerasi jaringan, mudah larut dalam darah, membantu proses pembekuan darah, menetralsir kadar asam dalam darah, menstabilkan tekanan darah, meningkatkan hemoglobin, meningkatkan

imunitas, mudah diserap tubuh, menguatkan kerja hepar dan jantung, tidak menimbulkan obesitas serta menurunkan kadar kolesterol berbahaya. Madu telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan oleh karena kandungan flavonoidnya yang tinggi. Antioksidan lain dalam madu yaitu asam amino, protein, dan fitokimia golongan polifenol.^{14,51}

Kandungan lain dalam madu yang bertindak sebagai antioksidan yaitu vitamin C, vitamin E, dan beta karoten. Vitamin C atau asam askorbat sebagai antioksidan hidrofilik yang berperan dalam memutus reaksi berantai, melakukan regenerasi vitamin E, dan menangkal secara langsung senyawa oksidan di dalam cairan ekstraseluler karena vitamin ini hanya larut dalam air. Vitamin ini akan bertindak sebagai pendonor electron untuk oksidan dan membentuk radikal *semi dehidroaskorbat* (DHA).⁴⁸ Sedangkan vitamin E atau alfa tokoferol sebagai senyawa antioksidan lipofilik memiliki peran melindungi serta memutus peroksidase lipid pada membrane sel. Sementara beta karoten yang terdiri atas dua molekul vitamin A mempunyai kemampuan bereaksi dengan oksidan terbatas karena vitamin ini mengalami auto oksidasi.¹¹ Kerjasama antara senyawa antioksidan dalam hepar dengan antioksidan yang terkandung dalam madu diharapkan dapat melindungi integritas struktur sel dari serangan radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh yang masuk ke dalam hepar.

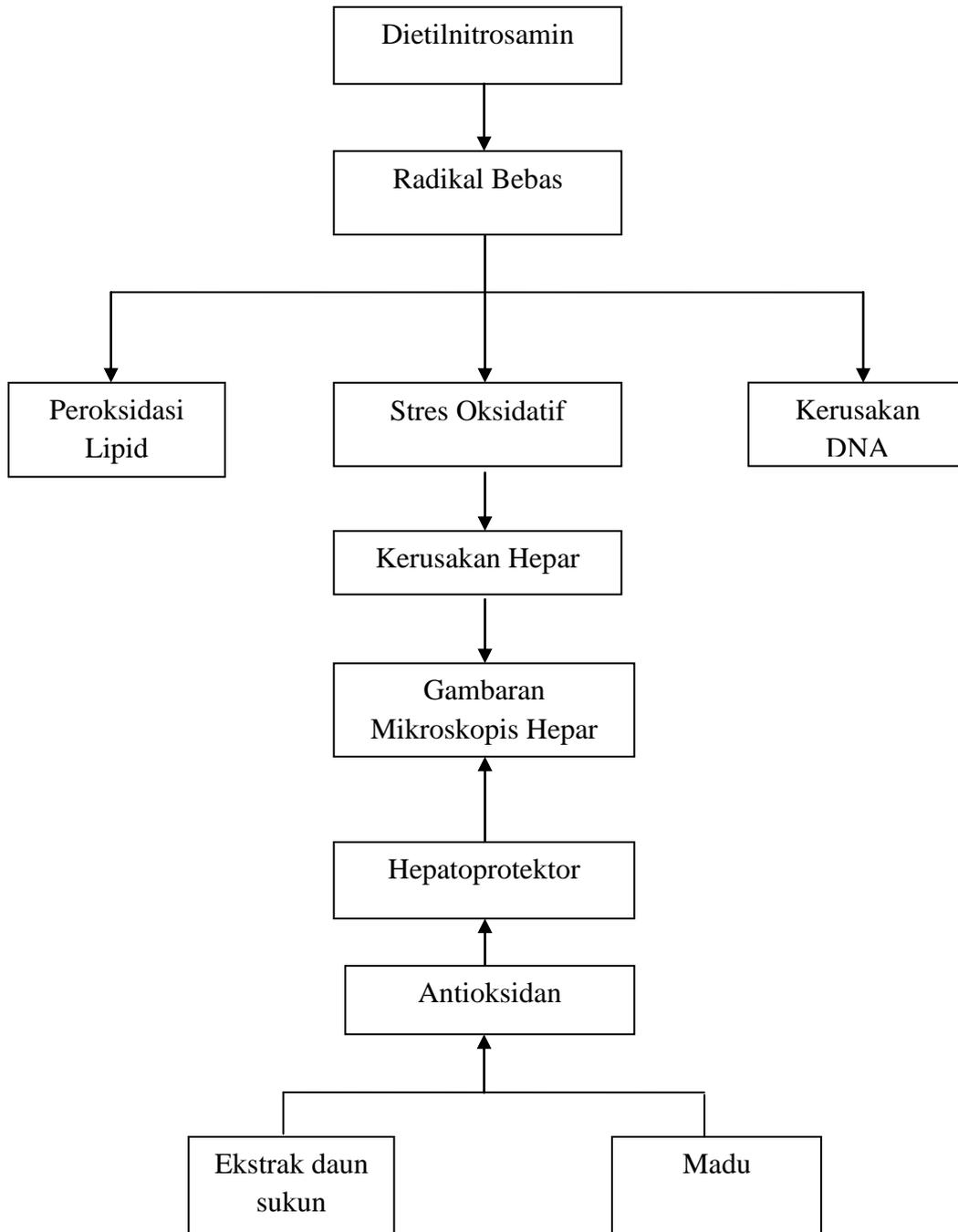
Penelitian yang dilakukan Fairuz *et al* tentang efek proteksi madu hutan terhadap kerusakan hepar tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi etanol menunjukkan terjadinya degenerasi lemak. Tikus putih dari kelompok pertama atau hanya sebagai kelompok kontrol tampak sedikit sekali terjadi perlemakan pada sel-sel hepar, sedangkan kelompok kedua atau sebagai kelompok kontrol

patologis tampak banyak sekali sel hepatosit yang mengalami degenerasi lemak. Untuk kelompok ke-3, 4 dan ke-5 tampak perbedaan sel hepatosit yang mengalami degenerasi lemak.⁵¹

Adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol normal dengan semua kelompok, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek yang diberikan pada kelompok I (kontrol normal) terhadap semua kelompok. Pada kelompok 1 atau sebagai kelompok kontrol yang diberi larutan aquadest 0,001 ml/grBB tampak sel-sel hepatosit hanya sedikit sekali yang mengalami degenerasi lemak. Pada kelompok 2 atau sebagai kelompok patologis yang diberi larutan etanol 50% 0,001 ml/grBB tampak banyak sekali sel-sel hepatosit yang mengalami degenerasi lemak, kelompok 3 yang diberi larutan madu 50% dosis I (0,0018 ml/grBB) dan larutan etanol 50% 0,001 ml/grBB juga tampak sel-sel hepatosit yang mengalami degenerasi lemak, sedangkan pada kelompok 4 yang diberi larutan madu 50% dosis II (0,0054 ml/grBB) dan larutan etanol 50% 0,001 ml/grBB dan kelompok 5 yang diberi larutan madu 50% dosis III (0,016 ml/grBB) dan larutan etanol 50% 0,001 ml/grBB juga tampak sel-sel hepatosit yang mengalami degenerasi lemak.⁵¹

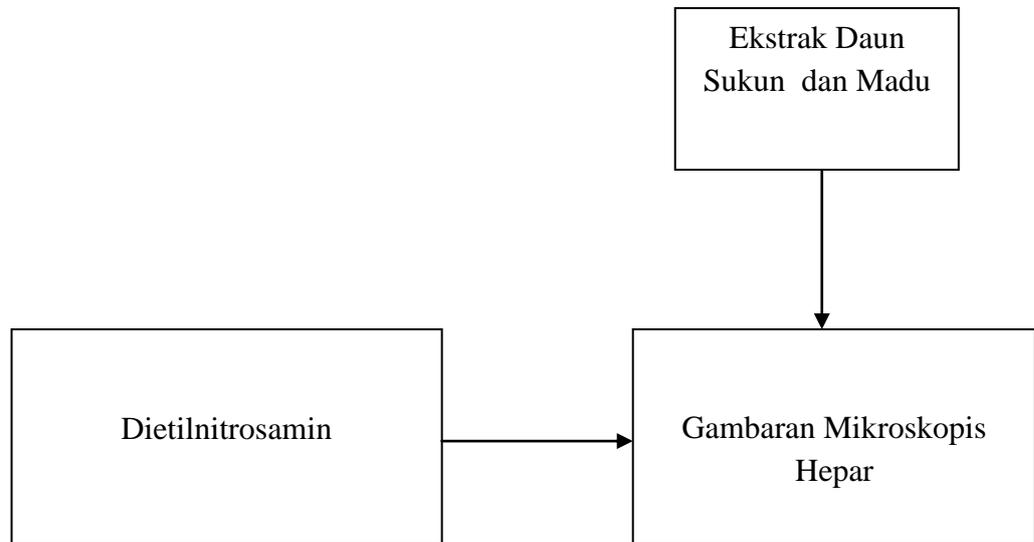
Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Bobi Kurnia tentang pengaruh madu bee pollen terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Ratus novergicus*) galur Sprageu-Dawley yang diinduksi ibuprofen didapatkan adanya gambaran histologi hepar dengan jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi bengkak dan keruh.⁵²

2.8 Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

2.10.1 Hipotesis Mayor

Pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan madu memberikan pengaruh berupa penurunan derajat fibrosis hepar pada tikus wistar jantan yang diinduksi DEN.

2.10.2 Hipotesis Minor

1. DEN berpengaruh buruk terhadap kerusakan derajat fibrosis hepar pada tikus wistar jantan.
2. Terdapat perbedaan kerusakan derajat fibrosis hepar pada tikus wistar jantan antara yang diberi DEN dan yang ditambahkan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan madu.